Beiträge zur Kenntnis verschiedener Veratrum-Drogen und ihrer Alkaloide

---

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

verfaßt und der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität

Würzburg

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

vorgelegt

von

Fritz Günther

aus

Würzburg

1955

Tag der mündl. Prüfung:
~~27. Mai 1955~~
28. Juni 1955

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderdruck aus
„Archiv der Pharmazie"
288./60. Band, Heft 10, Seite 455—465
Verlag Chemie G. m. b. H., Weinheim/Bergstraße

1427. H. Auterhoff und F. Günther

Beiträge zur Kenntnis verschiedener Veratrum-Drogen und ihrer Alkaloide*)

7. Mitteilung: Veratrin-Veratrum-Alkaloide**)

Aus dem Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität Würzburg
Dir.: Prof. Dr. *R. Dietzel*

(Eingegangen am 17. April 1955)

I.

Von den insgesamt 48 bekannten Arten der Gattung Veratrum haben nur wenige medizinische Beachtung gefunden. Dabei beruht die Verwendung einer bestimmten Art nicht auf rationellen Untersuchungen, sondern richtet sich nach dem Vorkommen der entsprechenden Pflanze. So wird in Nordamerika stets Veratrum viride Aiton gebraucht, in Europa Veratrum album L. und in Asien vielfach Veratrum nigrum L. Parallel verlief die chemische Untersuchung der Inhaltsstoffe. Vergleicht man schematisch die von Amerikanern an Veratrum viride erhaltenen Ergebnisse mit den in Europa mit Veratrum album erzielten, so ergeben sich scheinbare Unterschiede. Z. B. sind aus Veratrum viride Alkaloide isoliert worden, deren Vorkommen in Veratrum album noch nicht bestätigt worden ist und umgekehrt. Ebenso fehlen für die verschiedenen Drogen vergleichbare Angaben über den Gehalt an wichtigen Einzelalkaloiden.

Wir haben in 24 Einzelaufarbeitungen insgesamt 16 kg Rhizoma Veratri albi und 7 kg Rhizoma Veratri viridis***) untersucht und neben unserem ersten Ziel, der Darstellung von für weitere Arbeiten erforderlichen Alkaloiden, auch versucht, uns aus den präparativen Ausbeuten ein Bild über die Zusammensetzung der Alkaloidgemische zu machen. Nebenbei wurden die Extraktionsbedingungen variiert, um die günstigsten Verhältnisse festzustellen.

In Anlehnung an Versuche von *W. Poethke*[1]) wurden Extraktionen mit Äther durchgeführt. Äther-Chloroform-Gemische verwendeten wir auf Grund der Al-

*) *F. Günther*, Dissertation Würzburg 1955.
**) 6. Mitt.: *H. Auterhoff*, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. *287/59*, 380 (1954).
***) Wir danken den Firmen *Boxberger*, Bad Kissingen, *Byk-Gulden*, Konstanz, und *E. Merck*, Darmstadt, für die Überlassung authentischer, direkt aus den USA importierter Veratrum viride-Drogen.
[1]) *W. Poethke*, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. *275/47*, 357 (1937).

kaloid-Bestimmungsmethode von *G. Bredemann*[2]), nach der man um 10% höhere Werte erhält als nach dem mit Äther allein arbeitenden Verfahren der Pharm. Helv. V. Benzol wurde als Extraktionsmittel nach der von *L. C. Craig* und *W. A. Jacobs*[3]) gegebenen Vorschrift eingesetzt. Die besten Ausbeuten an Gesamtalkaloiden erhielten wir aber durch aufeinanderfolgende Extraktion mit Äther und Chloroform, wobei auch die sonst lästige Emulsionsbildung auf ein Mindestmaß herabgesetzt war.

Bei der Aufarbeitung der Gesamtalkaloide wurde auf die Gewinnung von Protoveratrin, Germerin und Jervin besonderer Wert gelegt. Die Abtrennung des Jervins erfolgte in den meisten Fällen nach dem *Salzberger*schen[4]) Metaphosphorsäure-Verfahren. Protoveratrin, Germerin und Rubijervin wurden aus dem Filtrat durch fraktionierte Kristallisation aus verschiedenen Lösungsmitteln erhalten.

Die präparativen Aufarbeitungen erlauben die Folgerung, daß Rhizoma Veratri albi bedeutend weniger Jervin, aber mehr Protoveratrin enthält als die untersuchten Veratrum viride-Drogen. Auch der Rubijervin-Gehalt ist in der Veratrum album-Droge geringer; dagegen scheinen beide Drogen etwa gleiche Mengen Germerin zu enthalten.

Die Ultraviolett-Absorptionsspektren der Gesamtalkaloide bestätigen in bezug auf Jervin das präparative Ergebnis (Abb. 1). Man erkennt in Veratrum album- und Veratrum viride-Zubereitungen das ausgeprägte Jervin-Maximum bei etwa 250 mμ; es liegt in Veratrum viride-Drogen aber wesentlich höher. Auffällig ist weiter, daß UV-Absorptionskurven von Veratrum album-Präparaten stets ein zweites Maximum bei 290 mμ aufweisen und daß dieses in Veratrum viride-Zubereitungen fehlt. Das Gesamtbild des Spektrums von Veratrum album-Gesamtalkaloiden erinnert an Veratroyl-Alkaloide. Dies wird insbesondere dann deutlich, wenn man das störende Jervin mit Metaphosphorsäure ausfällt. Nachdem *A. Stoll* und *E. Seebeck*[5]) aus Veratrum album Veratroyl-zygadenin in reiner Form isoliert haben, schien es wahrscheinlich, daß das Absorptions-Spektrum der Veratrum album-Gesamtalkaloide auf dieses zurückzuführen ist. In Anlehnung an die von letzteren Autoren gegebene Vorschrift haben auch wir aus Veratrum album Veratroyl-zygadenin isoliert und alle Zwischenphasen der Aufarbeitung UV-spektrometrisch kontrolliert. Das gewonnene Veratroyl-Alkaloid unterscheidet sich von Veratridin, das nach älteren Autoren in Veratrum-Drogen enthalten sein soll, durch Schmelzpunkt und papierchromatographisches Verhalten der bei Hydrolyse entstehenden isomeren Zygadenin-Alkamine.

UV-spektrometrisch ließ sich der Veratroyl-zygadenin-Gehalt auch quantitativ ermitteln. Nach Verseifung mit 5%iger Kalilauge wurde die freie Veratrumsäure extrahiert und in alkoholischer Lösung die Extinktion bei 260 mμ bestimmt. Veratrum album-Gesamtalkaloide enthielten etwa 1,6% Veratrumsäure, entsprechend

---

[2]) *Hagers* Handbuch d. pharm. Praxis, Springer Verlag, Berlin 1900, S. 1115.
[3]) *L. C. Craig* und *W. A. Jacobs*, J. biol. Chemistry *143*, 427 (1942).
[4]) *G. Salzberger*, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. *228*, 462 (1890).
[5]) *A. Stoll* und *E. Seebeck*, Helv. chim. Acta *36*, 1570 (1953).

5,8%, Veratroyl-zygadenin, Veratrum viride-Gesamtalkaloide etwa 0,5% Veratrumsäure, entsprechend 1,9% Veratroyl-zygadenin.

W. Poethke hat seinerzeit gravimetrisch in „amorphen Veratrum album-Alkaloiden" 0,6% Veratrumsäure ermittelt.

Zum Vergleich wurde eine Veratrum nigrum-Droge*) untersucht. Es stand eine Probe von 280 g zur Verfügung, aus der man die Gesamtalkaloide mit Chloroform extrahierte. In kristallisierter Form gelang die Darstellung von Jervin und Germerin. Papierchromatographisch wurden nach verschiedener Aufarbeitung der Gesamtalkaloide oder einzelner Fraktionen alle Alkamine der Germin- und Protoverin-Reihe nachgewiesen, sowie Pseudo-Zygadenin und Rubijervin. Den Veratrumsäure-Gehalt ermittelten wir mit 1,0%, was 3,8% Veratroyl-zygadenin entspricht.

Sofern man die von Pflanzen eines Botanischen Gartens stammende Droge für charakteristisch halten kann, gleicht Veratrum nigrum mehr Veratrum album als Veratrum viride, was auch aus den UV-Spektren hervorgeht (Abb. 1).

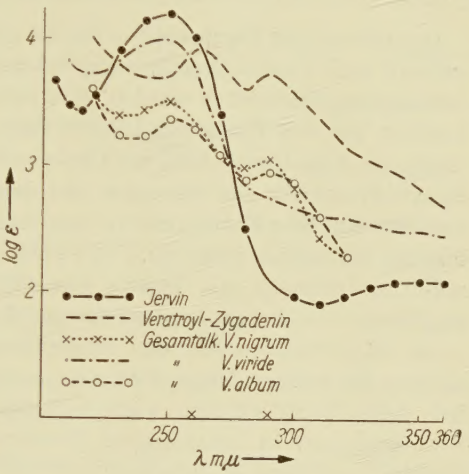


Abb. 1

II.

Während die Eigenschaften der Alkamine der Veracevin- und der Germin-Reihe heute als gut bekannt gelten dürfen, nimmt man für die Protoverin-Alkamine größte Ähnlichkeit mit den ersteren an, ohne daß bisher genügend experimentelle Beweise erbracht worden sind. Wir haben uns bemüht, vorhandene Lücken aufzufüllen.

Das genuine Protoveratrin-Alkamin ist Protoverin. Es wurde durch Verseifen von rohem Protoveratrin (Gemisch aus Protoveratrin A + B) mit Natronlauge in der Kälte dargestellt. Aus Äther wurden gut ausgebildete Kristalle gewonnen, die bei 215° (*Kofler*) schmolzen und mit Triphenyltetrazoliumchlorid nicht sofort reagierten; $[\alpha]_D^{20°} = -11°$ (Äthanol).

Verseiften wir Protoveratrin mit äthanolischer Natronlauge unter Erwärmen nach der *Cevagenin*-Darstellungsvorschrift[6]), so entstanden Protoverin-Isoprotoverin-Gemische. Durch fraktionierte Kristallisation aus Methanol wurde zuerst Protoverin abgeschieden und aus den Mutterlaugen durch mehrmaliges Umkristallisieren Isoprotoverin gewonnen. (Smp. 256—258° [*Kofler*]; $[\alpha]_D^{20°} = -50°$ [Äthanol]). Isoprotoverin reagiert rasch mit TTC unter Abscheidung von Formazan. Aus dem Ansatz konnte das durch die TTC-Oxydation entstandene, dem Dehydro-Cevagenin[7]) und Dehydro-Isogermin[8]) analoge Dehydro-Isoproto-

*) Aus dem Botanischen Garten der Universität Würzburg.

[6]) *H. Auterhoff*, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. *286/58*, 69 (1953).

[7]) *H. Auterhoff*, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. *286/58*, 319 (1953).

[8]) *H. Auterhoff* und *H. P. Kraft*, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. *287/59*, 332 (1954).

verin isoliert werden. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Äther und Trocknen bei 110° im Vakuum schmolz es bei 158° (*Kofler*). $[\alpha]_D^{18°} = +8°$ (c = 0,37; Äthanol; 1 dm-Rohr). Das Maximum der UV-Absorptionskurve lag bei 275 mμ ($\log_{max}^{\epsilon} = 3{,}54$). Dehydro-Isoprotoverin gibt die für Diosphenole (= C(OH) — CO —) charakteristische Schwarzfärbung mit Eisen-III-chlorid.

Darstellung und Eigenschaften des Pseudo-Protoverins, des den Alkaminen α-Cevin und Pseudo-Germin entsprechenden dritten Protoverin-Isomeren, sind bisher nicht beschrieben worden. Wie bei der Darstellung von Pseudo-Germin[8]) kochten wir ein Protoverin-Isoprotoverin-Gemisch mit 20%iger äthanolischer Kalilauge. Zum Unterschied von Cevin und Pseudo-Germin ließ sich das gebildete Pseudo-Protoverin aus wässeriger Kaliumhydroxyd-Lösung mit Chloroform nicht ausschütteln. Eine Extraktion war erst möglich, als man die Lösung neutralisierte und mit Ammoniak versetzte. Das Pseudo-Protoverin wurde mehrmals aus Äthanol-Äther-Lösungen mit Pentan ausgefällt. Die Ausbeute an papierchromatographisch einheitlichem Produkt betrug 18,5% d. Th. Pseudo-Protoverin ähnelt in seinen Eigenschaften sehr den entsprechenden Alkaminen α-Cevin und Pseudo-Germin. Die geringe Menge, die davon zur Verfügung stand, konnte nicht einwandfrei kristallisiert werden; auch α-Cevin und Pseudo-Germin sind ja nur mit Schwierigkeiten in kristallisierte Formen zu bringen. Der Schmelzpunkt des Pseudo-Protoverins ist unscharf: 163—171° (*Kofler*). Die UV-Absorptionskurve zeigt kein Maximum.

Große Hilfe bei der Identifizierung der isomeren Sabadilla- und Veratrum-Alkamine bietet die Papierchromatographie. Nachdem schon früher von uns einige papierchromatographische Methoden[9]) angewandt worden sind, haben wir nun in dem üblichen Butanol-Eisessig-Wasser-Gemisch (4:1:5) ein noch geeigneteres Lösungsmittel gefunden. Die isomeren Alkamine verhalten sich dabei sehr charakteristisch. Die Ketoformen (Cevagenin, Isogermin, Isoprotoverin) haben die kürzesten RF-Werte und sind auch auf dem Papier mit der TTC-Reaktion zu erkennen. Die Pseudoformen (Cevin, Pseudo-Germin, Pseudo-Protoverin) wandern am weitesten, und die genuinen Formen (Veracevin, Germin, Protoverin) haben mittlere RF-Werte. In dieses Schema passen auch Pseudo-Zygadenin und Isozygadenin, für die uns aber bisher aus Zygadenus-Arten isolierte authentische Vergleichssubstanzen fehlten. Die Dehydro-Produkte aller drei Alkamin-Reihen haben etwa gleiche RF-Werte; man erkennt sie auf dem Papier durch Schwarzfärbung mit Eisen-III-chlorid.

Alle untersuchten Alkamine und ihre Derivate reagieren deutlich mit modifiziertem *Dragendorff*-Reagens.

In der Reihe der Germin-Alkamine wurden Hydrierungsversuche durchgeführt, um zusätzlich Einblick in die Konstitution zu erhalten; zum weiteren ist es nicht unwahrscheinlich, daß Hydro--Alkamine in geringer Menge auch genuin im Gesamtalkaloid-Gemisch vorkommen.

[9]) *H. Auterhoff*, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. *286/58*, 69 (1953), *287/59*, 380 (1954).

Tabelle der RF-Werte:

Veracevin	0,60	
Cevagenin	0,57	— — TTC — positiv
α-Cevin	0,60	
Dehydro-Cevagenin	0,51	— — $FeCl_3$ — positiv
Germin	0,52	
Isogermin	0,42	— — TTC — positiv
Pseudo-Germin	0,80	
Dehydro-Isogermin	0,47	— — $FeCl_3$ — positiv
Protoverin	0,35	
Isoprotoverin	0,30	— — TTC — positiv
Pseudo-Protoverin	0,61	
Dehydro-Isoprotoverin	0,56	— — $FeCl_3$ — positiv
Isozygadenin	0,51	— — TTC — positiv
Pseudo-Zygadenin	0,90	

Wir stellten bisher vier verschiedene Hydro-Derivate her:

1. Dihydro-Germin aus Germin.
Smp.: 247° (*Kofler*); bei 242° Braunfärbung. $[\alpha]_D^{18°} = -26°$; (1 dm; 1,6%ige Lösung in Äthanol). RF-Wert 0,47. Kristallisiert aus Äther.

2. Dihydro-Isogermin aus Isogermin.
Smp.: 281° (*Kofler*); bei 270° Braunfärbung. $[\alpha]_D^{18°} = -42°$; (1 dm; 1,6%ige Lösung in Äthanol). RF-Wert 0,46.
Die UV-Absortionskurve des Hydro-Alkamins zeigt im Gegensatz zum Isogermin kein Maximum. Kristallisiert aus Äther und Äthanol.

3. Dihydro-Pseudogermin aus Pseudo-Germin.
Smp.: 240° (*Kofler*).
RF-Wert 0,52. Kristallisiert aus Äther.

4. Dihydro-Germin B durch Butanol-Natrium-Reduktion aus Germin.
Smp.: 225° (*Kofler*).
$[\alpha]_D^{20°} = -22{,}5°$ (1 dm; 1,6%ige Lösung in Äthanol). RF-Wert 0,47.
Hydro-Alkamin B wurde beim langsamen Verdunsten aus Äther erhalten.

Der Literatur[10]) entnahmen wir folgende Angaben über Hydro-Alkamine der Germin-Reihe.

Dihydro-Isogermin aus Isogermin.
Smp.: 277—278°; $[\alpha]_D^{18°} = -61°$ (Pyridin);
Dihydro-Germin B aus Germin.
Smp.: 265°; $[\alpha]_D^{18°} = -53^c$ (Pyridin).

Beschreibung der Versuche

Beispiele der Gesamtalkaloid-Gewinnung:

1. Äther-Extraktion. 1 kg Droge + 400 ml 10%igem Ammoniak + 5 l Äther, anschließend weitere 3 l Äther. Das ätherische Filtrat wurde auf etwa 300 ml eingeeingt, mit 1%iger Salzsäure ausgeschüttelt, die wässerige Phase ammoniakalisiert und mit Äther extrahiert.
Die Gesamtalkaloide wurden als essigsaure Salze gelöst und mit Metaphosphorsäure gefällt. Aus dem Niederschlag isolierte man Jervin, aus dem Filtrat nach Kristallisation aus Benzol Germerin.

[10]) *L. C. Craig* und *W. A. Jacobs*, J. biol. Chemistry *149*, 451 (1943).

2. Äther-Chloroform-Extraktion. Die Extraktion wurde wie unter Ziffer 1 durchgeführt, wobei als Lösungsmittel Äther-Chloroform (5+1) verwendet wurde.

3. Chloroform-Extraktion.

a) 1 kg Droge + 400 ml 10%igem Ammoniak + 5 l Chloroform, anschließend weitere 3 l Chloroform. Filtrat wurde eingeengt, mit verdünnter Essigsäure ausgeschüttelt und aus der essigsauren Lösung die Gesamtalkaloide gewonnen.

b) Die Gesamtalkaloide ließen sich in eine in Äther schwerlösliche Fraktion (etwa $^1/_5$ bei Rhizoma Veratri albi und etwa $^1/_3$ bei Rhizoma Veratri viridis) und in eine Äther leicht lösliche Fraktion (etwa $^4/_5$ bei Rhiz. Ver. alb. und etwa $^2/_3$ bei Rhiz. Ver. vir.) aufteilen. Die in Äther schwerlösliche Fraktion wurde mit Metaphosphorsäure behandelt. Das Filtrat gab einen Rückstand, der aus Methanol z. T. kristallisierte. Man erhielt Protoveratrin; die Mutterlaugensubstanz kristallisierte aus Benzol: Es fiel Germerin an.

4. Benzol-Extraktion. 1 kg Droge + 500 ml 2,5%igem Ammoniak + 3,5 l Benzol und anschließend 2,5 l Benzol.

Die Benzolauszüge wurden auf etwa 300 ml eingeengt, mit 5%iger Essigsäure ausgeschüttelt und die Gesamtalkaloide aus der essigsauren Lösung durch Alkalisierung mit Natronlauge und Ausschütteln mit Benzol gewonnen. Die Behandlung der Gesamtalkaloide mit Äther ergab eine in Äther relativ schwerer lösliche Fraktion, die der Metaphosphorsäure-Trennung unterworfen wurde.*)

Mittlere präparative Ausbeuten an einigen kristallisierten Alkaloiden. (Prozentzahlen beziehen sich auf die Droge).

Äther-Extraktion mit Rhiz. Ver. albi Mittel aus 6 Vers.: 0,66% Gesamtalkaloide (2,9 kg Droge gaben 19,13 g) Jervin 0,0057% — Protoveratrin — Germerin 0,014%	Äther-Extraktion mit Rhiz. Ver. viridis Mittel aus 2 Vers.: 0,91% Gesamtalkaloide (2,0 kg Droge gaben 18,17 g) Jervin 0,18% — Protoveratrin 0,011% — Germerin 0,017% — Rubijervin 0,026%
Äther + Chloroform-Extr. (5 + 1) mit Rhiz. Ver. albi Mittel aus 3 Vers.: 0,79% Gesamtalkaloide (1,4 kg Droge gaben 10,9 g) Jervin 0,0079% — Protoveratrin — Germerin 0,015%	Nach Elektrodialyse[11]) mit Rhiz. Ver. albi Kathodenflüssigkeit m. Chloroform extrahiert: 1,0% Gesamtalkaloide (3 kg Droge gaben 30 g) Jervin 0,0087% — Protoveratrin 0,017% — Germerin 0,021%
Chloroform-Extraktion mit Rhiz. Ver. albi Mittel aus 4 Vers.: 0,92% Gesamtalkaloide (3 kg Droge gaben 27,7 g)	Chloroform-Extraktion mit Rhiz. Ver. viridis Mittel aus 2 Vers.: 1,15% Gesamtalkaloide (2 kg Droge gaben 23,011 g)

*) Die Extraktionen 1 mit 4 wurden durch Mazeration oder Perkolation durchgeführt; die Ausbeuten waren wenig unterschiedlich.

[11]) *H. Auterhoff* und *H. P. Kraft*, Arzneimittel-Forsch. *4*, 673 (1954).

etwa $^1/_5$ der Gesamtalkaloide war Äther schwer löslich und wurde aufgearbeitet:

Jervin	Protoveratrin	Germerin
0,016%	0,027%	0,037%

etwa $^1/_3$ der Gesamtalkaloide war Äther schwer löslich und wurde aufgearbeitet:

Jervin	Protoveratrin	Germerin	Rubijervin
0,24%	0,022%	0,022%	0,035%

Benzol-Extraktion mit Rhiz. Ver. albi

Mittel aus 2 Vers.:
0,41% Gesamtalkaloide
(2 kg Droge gaben 8,2 g) ⟶

Jervin	Protoveratrin	Germerin
nicht bestimmt	0,055%	—

Anschließende Chloroform-Extr.:
0,40% Gesamtalkaloide
(= 8,0 g)

Jervin	Protoveratrin	Germerin
0,01%	—	nicht bestimmt

Benzol-Extraktion mit Rhiz. Ver. viridis

Mittel aus 4 Vers.:
0,50% Gesamtalkaloide
(4 kg Droge gaben 20,1 g) ⟶

Jervin	Protoveratrin	Germerin
0,045%	0,03%	—

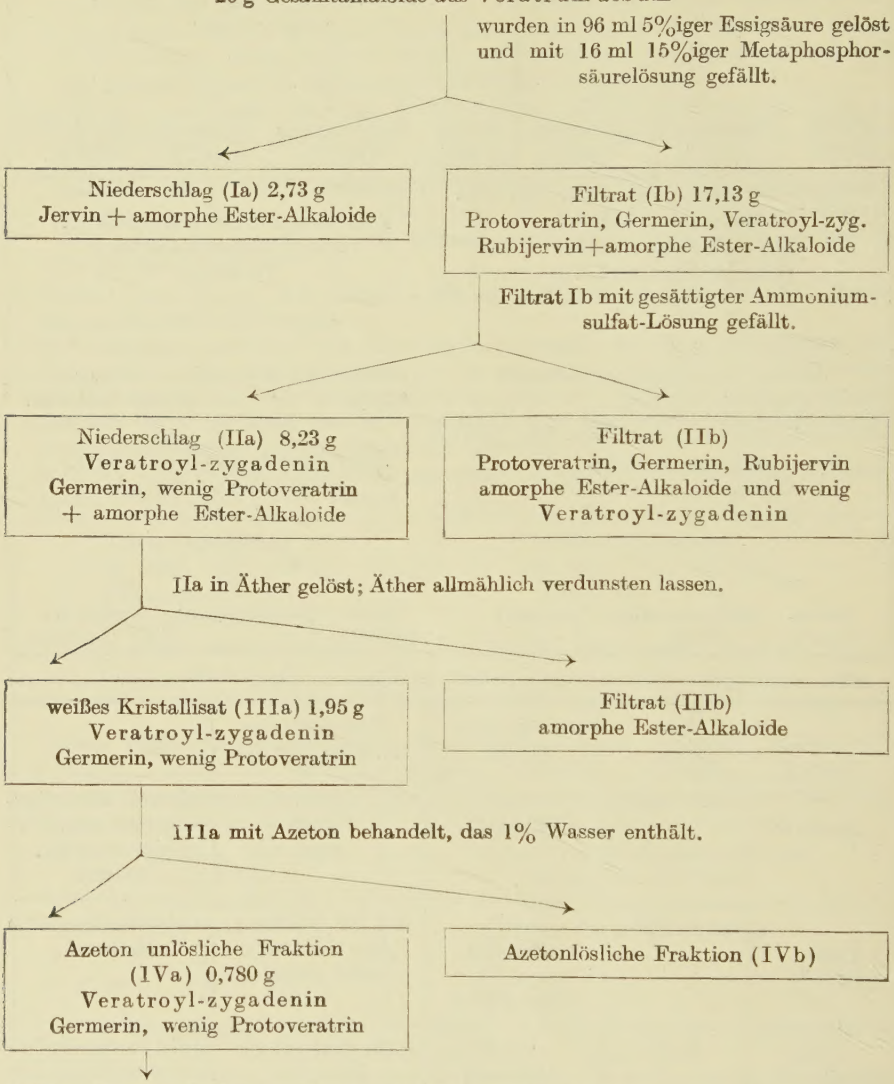
Anschließende Chloroform-Extr.:
0,30% Gesamtalkaloide
(= 12 g)

Jervin	Protoveratrin	Germerin
0,006%	—	nicht bestimmt

Die kristallisierten Alkaloide wurden durch die folgenden Eigenschaften charakterisiert:

	Smp. (*Kofler*)	Spez. Drehung $[\alpha]_D^{20°}$	Farbreaktion m. konz. H_2SO_4	
Jervin	243—244°	—140° (Äthanol)	gelb, schnell grün	fällt mit Metaphosphorsäure aus; UV-Spektrum max. 250 mμ
Protoveratin*)	etwa 269°	—37° (Pyridin) —9,7° (Chloroform)	in 1 Std. hellblau; beim Erwärmen rasch violett	kristallisierbar durch Methanol
Rubijervin	242°	+18,5° (Äthanol)	gelb, dann rot violett, grün	bleibt in der Methanol-Mutterlauge, kristallisierbar aus Äthanol
Germerin	195°	+10° (Chloroform)	gelb schnell karminrot	bleibt i. d. Äthanol-Mutterlauge, kristallisierbar aus Benzol

*) Hier wird stets „Rohprotoveratrin" gemeint. Eine Trennung in Protoveratrin A und B gemäß *A. Stoll* und *E. Seebeck*, Helv. chim. Acta *36*, 718 (1953) wurde bei diesen Untersuchungen nicht vorgenommen.



Fraktion IVa wurde der Gegenstromverteilung unterworfen.

Gegenstromverteilung

780 mg (IVa) wurden der *Craigschen* Gegenstromverteilung unterworfen. Lösungsmittel: Chloroform (stationäre Phase) 0,5 n Salzsäure (mobile Phase).

Apparatur: *Heckersche* Verteilungsapparatur, die Verteilung erfolgte über 25 Stufen.

Die UV-Spektren der einzelnen Fraktionen zeigten, daß in den Fraktionen 1 mit 3 und 12 mit 19 Veratroyl-zygadenin angereichert war. Nach Vereinigung dieser Fraktionen kristallisierte aus Äthanol Veratroyl-zygadenin, das bei 252° (*Kofler*) schmolz.

Quantitative Bestimmung der Veratrumsäure.

400 mg Gesamtalkaloide (genau gewogen) wurden in 15 ml Äthanol und 1,5 ml 5%iger äthanolischer Kalilauge gelöst und auf dem siedenden Wasserbade 30 Min. erhitzt. Nach dem Abdestillieren des Alkohols, Aufnehmen des Rückstandes in 10 ml Wasser und Ansäuern mit 6 ml 25%iger Phosphorsäure wurde die Lösung dreimal mit je 50 ml Benzol ausgeschüttelt. Das Benzol wurde nach dem Trocknen über geglühtem Natriumsulfat abdestilliert, der Rest flüchtiger Substanzen durch 10 Min. langes Evakuieren entfernt, der Rückstand mit Alkohol in ein 25 ml fassendes Meßkölbchen gespült und die Lösung im Spektrophotometer gemessen. Aus dem Verhältnis der Extinktionskoeffizienten bei 260 mμ von reiner und der aus dem Alkaloid-Gemisch gewonnenen Veratrumsäure läßt sich der Veratrumsäure- und der Veratroyl-zygadenin-Gehalt errechnen.

Papierchromatographie.

Lösungsmittel: Organische Phase der Mischung:
Butanol, Eisessig, Wasser (Verh. 4:1:5)
Papier: Schleicher-Schüll Nr. 2043b Mgl oder M
Methode: Es wurde meist absteigend chromatographiert.
Entwicklungsreagenzien: *H. Jatzkewitz*, Hoppe-Seylers, *292*, 94 (1953); *H. Thies* und *F. W. Reuther*, Naturw. *41*, 230 (1954) TTC: 1%ige TTC-Lösung+1%ige Natronlauge (1:1) $FeCl_3$: 3%ige wässerige Eisen-III-chlorid-Lösung.
Bei Verwendung des Reag. nach *Jatzkewitz* sieht man Alkaloid-Flecken sofort, das Papier der Umgebung färbt sich aber auch recht stark gelb. Beim Reag. nach *Thies/Reuther* ist eine längere Wartezeit erforderlich; Das alkaloidfreie Papier färbt sich nur wenig.

Darstellung von Protoverin.

500 mg Protoveratrin (Smp. 269°) wurden in 20 ml Methanol gelöst, mit 0,5 ml 5n-Natronlauge versetzt und auf 0° abgekühlt. Nach 24stündigem Stehen bei 0° verdünnte man mit 50 ml Eiswasser und extrahierte 10mal mit je 5 ml Chloroform. Das Chloroform wurde mit 10 ml Wasser gewaschen und im Vakuum abdestilliert. Der Rückstand wurde mehrmals mit Äther ausgekocht. Beim langsamen Verdunsten des Äthers kristallisierten 50 mg reines Protoverin (Smp. 215°). Aus den Mutterlaugen wurden weitere 50 mg vom Schmelzpunkt 185° gewonnen, die durch mehrmaliges Umkristallisieren auch reines Protoverin ergaben. (Diese Darstellung wurde in Analogie zur Veracevin-Darstellung von *W. A. Jacobs* und *S. W. Pelletier*[12]) gewählt.)

Darstellung von Isoprotoverin.

a) 1,0 g Protoveratrin wurde mit 20 ml Äthanol und 0,9 ml 2n-Natronlauge 30 Min. auf dem siedenden Wasserbade erhitzt. Nach dem Erkalten verdünnte man mit 50 ml Wasser und schüttelte mehrmals mit insgesamt 200 ml Chloroform aus. Der Rückstand nach dem Abdestillieren des Chloroforms wurde in 20 ml Methanol-Äther-Gemisch (soviel Äther, daß noch keine Fällung entstand) aufgenommen. Es fielen Kristalle aus, die bei 210—255° unscharf schmolzen. Das rohe Kristallisat wurde mit Äther ausgekocht; aus dem Filtrat kristallisierten etwa 40 mg Protoverin aus. Der in Äther ungelöste Rückstand wurde in 5 ml Methanol aufgenommen und mit Äther versetzt. Es kristallisierten 120 mg Isoprotoverin aus. (Smp. 255—258°). Maximum der UV-Absorptionskurve bei 275 mμ 10 g $\varepsilon_{max} = 2{,}04$). Aus der Mutterlauge wurden weitere kleine Mengen Isoprotoverin gewonnen.

b) In einem zweiten Ansatz wurde 1,0 g Protoveratrin ebenso verseift und mit Chloroform extrahiert. Das Rohprodukt kristallisierte man aber zuerst aus Methanol allein um; es fielen dabei etwa 70 mg Protoverin an. Isoprotoverin wurde beim Einengen

[12]) *W. A. Jacobs* und *S. W. Pelletier*, J. Amer. chem. Soc. *75*, 3248 (1953).

der Mutterlaugen zunächst in roher Form gewonnen und dann aus Methanol umkristallisiert. Ausbeute: 125 mg (Smp. u. UV-Maximum wie unter a).

Darstellung von Dehydro-Isoprotoverin.

200 mg Isoprotoverin wurden mit 15 ml 1%iger TTC-Lösung und 20 ml 1n-Natronlauge 2 Tage stehen gelassen. Nach dem Ansäuern mit verdünnter Salzsäure filtrierte man das Formazan ab und extrahierte das Filtrat mit Chloroform. Die wässerige Phase wurde alkalisiert, 4—5mal mit je 20 ml Chloroform ausgeschüttelt und das Chloroform abdestilliert. Den Rückstand kochte man mit viel Äther aus. Aus dem Äther kristallisierte beim langsamen Eindunsten Dehydro-Isoprotoverin. Nach dem Umkristallisieren aus Äther schmolz die Substanz bei 158° (*Kofler*). Das Maximum der UV-Absorptionskurve lag bei 275 mμ (10 g ε_{max} = 3,54). Die Substanz färbte Eisen-III-chlorid intensiv schwarz.

Ausbeute: 38 mg = 18% d. Th.

Darstellung von Pseudo-Protoverin.

40 mg Isoprotoverin (Smp. 258°) und 84 mg Protoverin (Smp. 216°) (Sa. 124 mg) wurden mit 3 ml 20%iger äthanolischer Kalilauge 3 Std. am Rückflußkühler gekocht, nach dem Erkalten mit 20 ml Wasser verdünnt und mehrmals mit insgesamt 50 ml Chloroform ausgeschüttelt. Aus dem Chloroform wurden nur 1,8 mg einer bei 110—120° schmelzenden, unreinen Substanz isoliert. Man säuerte darauf mit Salzsäure an, schüttelte zur Reinigung sauer mit Chloroform aus, ammoniakalisierte und extrahierte mit insgesamt 250 ml Chloroform. Aus dem Chloroform wurden 43 mg rohes Pseudo-Protoverin gewonnen. (Smp.-Beginn ungefähr 145°, eigentliches Schmelzen 162—168° [*Kofler*]). Die Substanz wurde dreimal in wenig Äthanol und etwa 25 ml Äther gelöst und mit Pentan langsam ausgefällt. Ausbeute an papierchromatographisch einheitlichem Produkt 23 mg (= 18% d. Th); Smp. 163—171°. Drehung in Äthanol praktisch 0.

c = 0,219; 18°; 1-dm-Rohr.

$C_{27}H_{43}O_9N$. (525 · 62) ber:. 61,67 C 8,25 H 2,66 N
gef.: 60,03 C 8,51 H 2,47 N

Als wir einen Ansatz 6 Std. mit 20%iger Kalilauge kochten, bildete sich relativ viel Dehydro-Isoprotoverin.

Hydrierungsversuche.

Durchführung: 200—400 mg Substanz werden in Äthanol gelöst und mit *Raney*-Nickel oder Platin-Katalysator bei Zimmertemperatur und normalem Druck hydriert. Am leichtesten ist Isogermin zu hydrieren. Nach Abfiltrieren des Katalysators konzentriert man die äthanolische Lösung und versetzt sie mit einem Überschuß von Äther. Nach einiger Zeit bilden sich in der Kälte Kristalle bzw. fällt beim Dihydro-Isogermin ein feines Kristallmehl an. Die Hydro-Alkamine wurden bei 120° im Vakuum getrocknet.

Die Analysen ergaben folgende Werte:

1. Dihydro-Germin: $C_{27}H_{45}O_8N$ (511,62)
ber.: C 63,30 H 8,88 N 2,74
gef.: 60,54 8,92 2,74

2) Dihydro-Isogermin: $C_{27}H_{45}O_8N$ (511,62)
ber.: C 63,30 H 8,88 N 2,74
bei versch. Herstellungschargen gef.:
1. 61,84 9,07 2,60
2. 62,54 8,92 2,70

3) Dihydro-Pseudo-Germin: $C_{27}H_{45}O_8N$ (511,62)
ber.: C 63,30 H 8,88 N 2,74
gef.: 60,39 9,38 —

Hydrierung von Germin mit Butanol und metallischem Natrium.

Reduziert man Germin gemäß der Vorschrift von *L. C. Craig* und *W. A. Jacobs*[10]) in 40 ml Butanol mit 2,0 g Natrium, so erhält man ein bräunliches Produkt. Kocht man dieses mit Äther aus und läßt die ätherische Lösung langsam in der Kälte eindunsten, so fällt ein weißes, amorphes Pulver aus.

Analyse: $C_{27}H_{45}O_8N$ (511,62)

ber.:	C 63,30	H 8,88	N 2,74	O 25,08
gef.:	63,08	8,48	2,36	25,67

(Sa. 99,79).

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für Unterstützung dieser Arbeit.

Druck: III-18-127. — KB DG 5000-80-53